

NOVEL ANTIBIOTICS MAZETHRAMYCINS AND PROCESS THEIR PREPARATION

Publication number: JP53082792

Publication date: 1978-07-21

Inventor: UMEZAWA HAMAO; TAKEUCHI TOMIO; HAMADA
TADASHI; KUNIMOTO SETSUKO

Applicant: MICROBIAL CHEM RES FOUND

Classification:

- international: *C12P17/10; A61K31/395; A61K31/55; A61P35/00;
C07D487/04; C12P17/14; C12R1/465; C12P17/10;
A61K31/395; A61K31/55; A61P35/00; C07D487/00;
C12P17/14; (IPC1-7): A61K31/395; C07D487/04;
C12D9/14*

- European:

Application number: JP19760157479 19761228

Priority number(s): JP19760157479 19761228

Report a data error here

Abstract of JP53082792

PURPOSE: Mazethramycins I (R is H or lower alkyl, esp. methyl or ethyl) and their anhydro cpds., e. g. mazethramycin A (R=H), mazethramycin B (R= methyl), mazethramycin C(R=ethyl) or anhydromazethramycin.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

公開特許公報

昭53—82792

⑤Int. Cl. ²	識別記号	⑤日本分類	庁内整理番号	④公開	昭和53年(1978)7月21日
C 07 D 487/04 //		16 E 61	6736—44		
A 61 K 31/395		30 G 133	7432—44	発明の数	3
C 12 D 9/14		30 H 52	5727—44	審査請求	未請求
(C 07 D 487/04		36(2) D 531	7110—49		
C 07 D 243/00					
C 07 D 209/00)					(全24頁)

④新制癌抗生物質マゼスライシン及びその製造方法

②特 願 昭51—157479

②出 願 昭51(1976)12月28日

②発 明 者 梅沢浜夫

東京都練馬区豊玉北4丁目23番地

同 竹内富雄

東京都品川区東五反田5丁目1番11号

②発 明 者 浜田雅

保谷市富士町1丁目7番3号—4

同 国元節子

川崎市高津区宮崎2丁目6番11号

①出 願 人 財団法人微生物化学研究会

東京都品川区上大崎3丁目14番23号

④代 理 人 弁理士 朝内忠夫 外3名

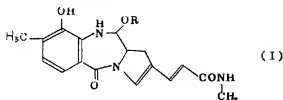
明 細 書

1. 発明の名称

新制癌抗生物質マゼスライシン及びその製造方法

2. 特許請求の範囲

1. 次の一般式(I)



〔式中Rは水素原子または低級アルキル基、特
にメチル基またはエチル基を示す〕で表わされる
化合物またはこれのアンヒドロ体である制癌抗生
物質マゼスライシン化合物。

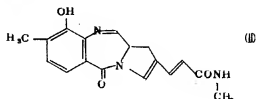
2. 一般式(I)の化合物においてRが水素原子で
表わされるマゼスライシンAである特許請求の
範囲部/項記載の化合物。

3. 一般式(I)の化合物においてRがメチル基で

表わされるマゼスライシンBである特許請求の
範囲部/項記載の化合物。

4. 一般式(I)の化合物においてRがエチル基で
表わされるマゼスライシンCである特許請求
の範囲部/項記載の化合物。

5. 一般式(I)の化合物のアンヒドロ体であつて
次式(II)



で表わされるアンヒドロマゼスライシンである
特許請求の範囲部/項記載の化合物。

6. ストレプトミセス属に属するマゼスライ
シン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地中で
好氣的に培養して、その培養物中にマゼスライ
シン化合物を生産せしめ、培養物からマゼスラ
ン化合物を採取することを特徴とする、抗

NOVEL ANTIBIOTICS MAZETHRAMYCINS AND PROCESS THEIR PREPARATION**Publication number:** JP53082792**Publication date:** 1978-07-21**Inventor:** UMEZAWA HAMAO; TAKEUCHI TOMIO; HAMADA
TADASHI; KUNIMOTO SETSUKO**Applicant:** MICROBIAL CHEM RES FOUND**Classification:****- international:** *C12P17/10; A61K31/395; A61K31/55; A61P35/00;
C07D487/04; C12P17/14; C12R1/465; C12P17/10;
A61K31/395; A61K31/55; A61P35/00; C07D487/00;
C12P17/14; (IPC1-7): A61K31/395; C07D487/04;
C12D9/14***- european:****Application number:** JP19760157479 19761228**Priority number(s):** JP19760157479 19761228**Report a data error here****Abstract of JP53082792**

PURPOSE:Mazethramycins I (R is H or lower alkyl, esp. methyl or ethyl) and their anhydro cpds., e. g. mazethramycin A (R=H), mazethramycin B (R= methyl), mazethramycin C(R=ethyl) or anhydromazethramycin.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

生物質マゼスラマイシン化合物の製造法。

7. ストレプトミセス・テオラテウス M D 56 /
— 6 株 (農工研審第 2 4 2 3 号) を培養菌培
地中で 2 3—3 7 日の培養期間で好気的に培養し
て、その培養物中にマゼスラマイシン化合物を生
産せしめる特許請求の範囲第 4 項記載の方法。

8. マゼスラマイシン化合物生産菌の培養物か
ら水非混和性の有機溶剤で抽出によつてマゼス
ラマイシン化合物を採取する特許請求の範囲第 6
項記載の方法。

9. マゼスラマイシン化合物生産菌の培養液
から吸着剤、特に活性炭または多孔質樹脂に吸着
せしめてマゼスラマイシン化合物を採取する特許
請求の範囲第 6 項記載の方法。

10. マゼスラマイシン化合物を含有する粉末を
採取し、この粉末をメタノール又はメタノールを
含有する混合溶媒で抽出してマゼスラマイシン B
を採取する特許請求の範囲第 7 項記載の方法。

11. マゼスラマイシン B を採取し、非極性溶媒
中で脱水して、アンヒドロマゼスラマイシンを採

取る特許請求の範囲第 4 項又は第 7 項記載の方法。

12. アンヒドロマゼスラマイシンを採取し、含
水溶媒に溶解して、マゼスラマイシン A を採取す
る特許請求の範囲第 6 項記載の方法。

13. アンヒドロマゼスラマイシンを採取し、エ
タノールを含有する溶媒に溶解して、マゼスラ
マイシン C を採取する特許請求の範囲第 6 項記載
の方法。

14. マゼスラマイシン A またはアンヒドロマゼ
スラマイシンをメタノールまたはエタノールと反
応させることから成るマゼスラマイシン B または
C の製造法。

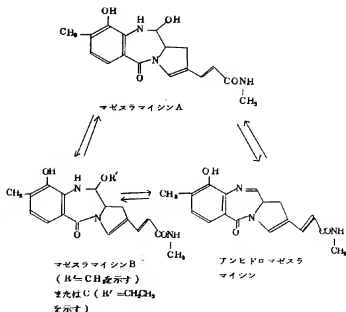
3 発明の詳細な説明

本発明はストレプトミセス属に属する微生物を
培養してその培養物から採取して得られる新規な
制菌抗生物質マゼスラマイシン (Mazethramycin)
A, B, C およびアンヒドロマゼスラマイシン
(以下では、これら新規化合物を総称してマゼス
ラマイシン化合物若しくは単にマゼスラマイシン
とす) に關し、また、それらのマゼスラマイ

シン化合物の製造方法に關するものである。

本発明者らによれば、昭和 47 年 10 月、東京
都新島土庫より分離された放線菌で、ストレプ
トミセス・テオラテウスと鑑定された M D 56 /
— 6 株を培養してマゼスラマイシンを蓄積せし
め、その培養物からマゼスラマイシンを採取する
ことによつて、新規な制菌抗生物質マゼスラマ
イシン A, B, C およびアンヒドロマゼスラマ
イシンを製造し得ることを知見した。

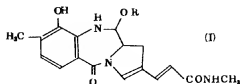
本発明に述べるマゼスラマイシン A, B, C お
よびアンヒドロマゼスラマイシンは下記の化学構
造式をもつ化合物であると認められ、また適宜な
溶媒による溶液中で、次の反応式の如く相互に容
易に変換する化合物である。



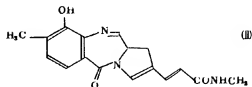
すなわち、マゼスラマイシン A は非極性溶媒中
で濃縮して脱水するとアンヒドロマゼスラマイシ
ンとなる。また、アンヒドロマゼスラマイシンは

含水溶液中で容易にマゼスラマイシンAに変換する。不安定なマゼスラマイシンAまたはアンヒドロマゼスラマイシンは、アルコール性溶液、すなわちメタノール含有溶液中で、メタノールと反応する結果容易に安定なマゼスラマイシンB、またはエタノール含有溶液中で、エタノールと反応する結果安定なマゼスラマイシンCとなる。従つて、マゼスラマイシン化合物は水性の培養液中では大部分マゼスラマイシンAとして存在することが考えられるが、マゼスラマイシン化合物の採取のために抽出精製する際にアルコール性溶液を使用しより安定なマゼスラマイシンBまたはマゼスラマイシンCとして採取することが好ましい。マゼスラマイシンA、B、Cおよびアンヒドロマゼスラマイシンは、いずれも細菌、かび類に抗菌作用を示し、特にマウス白血病細胞L-1210細胞およびある種の癌細胞の発育を強く抑制する新抗生物質で、いずれもそれらの作用に本質的差異は認められず、適宜なマゼスラマイシン化合物をそれぞれ同様に制癌剤として用いることができる。

すなわち、第一の本発明の要旨とするところは、次の一般式(I)



(式中Rは水素原子、メチル基、またはエチル基である)、で表わされる化合物、またはこれのアンヒドロ体、すなわち次式(II)



の化合物であるマゼスラマイシン化合物にある。

本発明に係る新制癌抗生物質マゼスラマイシンの性状は次に示すとおりである。

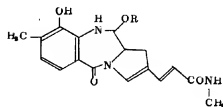
(I) マゼスラマイシンAは淡黄色粉末、融点 $181 \sim 193^\circ\text{C}$ (分解)。(α) $_{\text{D}}^{25} + 73.0^\circ\text{C}$ (c 0.062, ジメチルホルムアミド)、紫外部吸収スペクトル曲線は第1図に示す通りである。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN}}$ mμ(e): 320(肩34600), 333(39,400)である。臭化カリウムで測定した紫外部吸収スペクトル曲線は第2図に示すとおりである。元素分析は実験値: C 62.35%, H 5.72%, N 12.52%, O 18.99%, 理論値($\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_4$): C 61.97%, H 5.82%, N 12.76%, O 19.43%であった。高分解能マススペクトルで分子ピークは認められず、脱水ピークが認められた。重ジメチルスルホキシド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルは次に述べるマゼスラマイシンBのそれと比べ、 $-\text{OCH}_3$ のシグナル(δ 3.44 ppm)の消失、δ 5.09 ppm(シングレット)とδ 4.83 ppm(ダブレット)に新たなシグナル(1H)が観察された。これは、マゼスラマイシンBにおける $-\text{OCH}_3$ 基が $-\text{OH}$ 基に変換し、エビマーの存在(約50%)を示した。

(II) マゼスラマイシンBは黄色針状晶で明確な融点を示さず $245 \sim 270^\circ\text{C}$ 付近で分解する。比旋光度は(α) $_{\text{D}}^{25} + 90.0^\circ$ (c 0.2, ジメチルホルムアミド)の値を得た。元素分析は実験値: C 63.38%, H 6.18%, N 12.40%, O 18.19%, 理論値($\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_4$): C 62.96%, H 6.16%, N 12.24%, O 18.64%である。メタノール、エタノール、プロパノール、酢酸エチル、アセトニトリル、クロロホルムに溶解するが、酢酸ブチル、ベンゼン、エーテルには難溶である。呈色反応は、ファストブルーB反応でレンガ色に呈色する。エールリツヒ、坂口、ライドンスミス反応は陰性である。シリカゲルの薄層上で、約10時間放置することにより褐色を呈してくる。シリカゲルの薄層クロマトグラフィーで、クロロホルム-メタノール(10:1)の展開系でRfは0.21である。紫外部吸収スペクトル曲線(3μg/ml)は第3図に示すとおりで、アルカリ溶液中では長波長側へのシフトが認められる。極大吸収は、1%メタノール溶液中で215 mμ(ε 23,600)

235 mμ (ε 22,200) および 334 mμ (ε 46,100) である。0.1 N 水酸化ナトリウム含有 1% メタノール溶液中では、258 mμ (肩 17,200) および 335 mμ (ε 43,400) である。

臭化カリウムで測定した赤外部吸収スペクトル曲線は第4図に示すとおり、3350、3120、2950、1460、1630、1610、1363、1313、1463、1410、1370、1343、1313、1250、1220、1170、1143、1070、1023、990、933、940、910、880、833、820、760 cm⁻¹ に主な吸収帯を有する。重シメチルスルホキシド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルは第5図に示すとおりである。マゼスライシンBはその紫外吸収スペクトル、赤外部吸収スペクトルおよび核磁気共鳴スペクトルからアンズライシン (ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサエティ 87巻 3791頁〜3795頁 1963年) ときわめて類似の化合物である。核磁気共鳴スペクトルにおける2重共鳴法よりアン

ズライシン・メチルエーテルの構造であるアクリルアミド部分がN-メチル (82.05 ppm) 化された化合物であることが推定される。さらにアンズライシン・メチルエーテルのマススペクトルに特徴的に見られる脱メタノールピークはマゼスライシンBの高分解能マススペクトルに認められ、さらにマゼスライシンBの酸加水分解 (1規定塩酸、加熱還流2時間) 物中にガスクロマトグラフィーによりメチルアミンが検出されることから、マゼスライシンAおよびCはそれぞれ下記構造を有する新規な化合物であることを確認した。



マゼスライシンA: R = H

マゼスライシンB: R = CH₃

マゼスライシンC: R = -CH₂CH₃

(ii) マゼスライシンCは淡黄色結晶性粉末で融点216〜223℃ (分解), $[\alpha]_D^{25} +45.0$ (c 0.067ジメチルスルホキシド)。紫外吸収スペクトル曲線は第6図に示すとおりである。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN}}$ mμ (ε): 217 (23,700), 233 (肩 19,300), 333 (43,600) である。臭化カリウムで測定した赤外部吸収スペクトル曲線は第7図に示すとおりである。元素分析は、実験値 C 63.23%, H 6.33%, N 12.23%, O 15.83%, 理論値 (C₁₉H₂₃N₃O₄): C 63.85%, H 6.48%, N 11.76%, O 17.71% であつた。重シメチルスルホキシド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルは、マゼスライシンBのそれと比べ、エチル基のシグナル (-OCH₂-, 83.1〜83.6 ppm; -CH₃-, 81.13 ppm) が観察された。

(iv) アンヒドロマゼスライシンは、淡黄色結晶で、融点232〜262℃ (分解), $[\alpha]_D^{25} +$

194.0° (c 0.05, ジメチルスルホキシド)、紫外吸収スペクトル曲線は第8図に示すとおりである。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN}}$ mμ (ε): 229 (16,100),

235 (肩 13,800), 298 (肩 19,300) 313 (21,800), 332 (21,100) である。

臭化カリウムで測定した赤外部吸収曲線は第9図に示すとおりである。元素分析は実験値: C

63.04%, H 6.10%, N 13.04%, O 16.38

%, 理論値 (C₁₇H₁₇N₃O₃): C 63.58%, H

5.30%, N 13.50%, O 15.42% であつた。

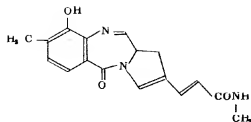
高分解能マススペクトルで分子ピーク (実験値

311.125, 計算値 311.124) が観察された。

重シメチルスルホキシド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルはマゼスライシンBのそれと比べ、-OCH₃のシグナル (83.44 ppm) が

消失し、アゾメチンのシグナル (88.13 ppm) が観察された。アンヒドロマゼスライシンは下記

の構造を有するマゼスライシンAの脱水体であることを確認した。



なお、アンヒドロマゼスライシンをメタノール、エタノール、プロピルアルコール、ブタノール等の低級アルコール中に溶解すると、紫外部吸収スペクトルの変化より、アルコール付加物となつてゐることが確認された。しかし、メタノール、エタノール付加物であるマゼスライシン B および C 以外のアルコール付加物は不安定で、減圧下に加熱乾燥（約 50℃）するとアンヒドロマゼスライシンにもどることが認められた。

マゼスライシン A, B, C ならびにアンヒドロマゼスライシンの各々の栄養素天上での最低阻止濃度は図 1 表に示すとおりである。

新 / 表	供 試 商	最低阻止濃度 (mg/kg)
	スチロコツカス・アウラクス 209P	3.12
	スチロコツカス・アウラクス・スミス	1.56
	シクロコツカス・フラバス FDA14	3.12
	シクロコツカス・リゾチカイダクス IP03333	3.12
	サメナタ PCI1001	3.12
	バサナス・アウラクス	6.25
	バサナス・ズラナス NERL B.338	3.12
	バサナス・ズラナス PCI119	1.56
	バサナス・セラダス ATCC10702	6.25
	コリネバクテリウム・シビス1810	3.12
	エリトリトール NIH	6.25
	エリトリトール K-12	50
	シガラ・シセンナリ JS11910	3.12
	シガラ・フレキナリ 4381811	50
	シガラ・ソナリ JS1746	100
	サメナタ・チアチ T-63	50
	サメナタ・エンチリナリス 1891	6.25
	フロコリス・ブルカリス OX19	50
	フロコリス・レトナリ GN44	50
	シム・メサス・エナキ/ーザ A3	>50
	クレブシラ・エナキ/ーザ PCI601	3.12
	カンシダ・シム・トロピカリス F-2	6.25
	カンシダ・アムヒカリス 3147	725
	カンシダ・シム F-5	>50
	サワカシセス・セラビシエ F-7	725
	タリプトコリス・オホカリス F-10	>12.5
	ヘルミンシス・シリカス・シリ	712.5
	ペリダリダ・シリ	61.25
	キチントモナス・シリ	725
	キチントモナス・シリ	71.56
	アスベキナス・ニガ F-16	750
	トリコフアイトン・アサチロイダ 429	712.5

マゼスラマイシン A, B および C のマウスの白血病に対する治療効果をみるため、マウスの腹腔に 10^5 個/マウスの率で $L-1210$ 細胞を移植後、マゼスラマイシン A, B, C の各々を腹腔内注射で連続 10 日間投与すると患 2 表に示す様な延命効果を示した。

患 2 表

投与量 (mcg/マウス日)	延命率(%)
1.25	20.5
0.63	24.0
0.31	16.4
0.16	16.4
0.08	12.3

但し延命率は次式によつて計算した。

$$\text{延命率}(\%) = \frac{(\text{処置マウスの生存日数})}{(\text{未処理マウスの生存日数})}$$

マゼスラマイシン A, B, C ならびにアンヒドロマゼスラマイシンの各々の急性毒性は 10 mg/kg タノール水溶液をマウスの腹腔内に投与して LD₅₀

以上の胞子の連鎖をみると、胞子の大きさは $1.0 \sim 1.2 \times 0.4 \sim 0.5$ ミクロン位で、胞子の表面は平滑である。

2. 各種培地における生育状態

色の記載について〔 〕内に示す符号は、コンティナー・コーボレーション・オブ・アメリカのカラー・ハーモニー・マニュアルを用いた。

(1) シュクロース・硝酸塩寒天培地 (27℃培養)

無色の発育上に、白色の気菌糸を着生し、溶解性色素はみとめられない。

(2) グルコース・アスパラギン寒天培地 (27℃培養)

無色～うす黄～にぶ黄〔 $1/2$ Me, Antique Gold 〕の発育上に、白～黄味灰〔 1 ch, parchment ~ 2cb, Ivory Tint 〕の気菌糸を着生し、溶解性色素はわずかに黄色味をおびる。

(3) グリセリン・アスパラギン寒天培地 (ISP-培地 5, 27℃培養)

うす黄～うす黄茶〔 3 ng, Yellow Maple 〕～黄茶〔 3 pi, Golden Brown ~ 4 pi Oak Brown 〕の

0.8 階/坪である。

なお、本発明におけるマゼスラマイシン A, B, C およびアンヒドロマゼスラマイシンの間では、これらの生物学的性質はそれぞれ本質的差異を示さない。

第二の本発明の要旨とするところは、ストレプトミセス属に属するマゼスラマイシン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地中で好氣的に培養して、その培養物中にマゼスラマイシン化合物を採取することを特徴とする、抗生物質マゼスラマイシン化合物の製造法にある。

第二の本発明で使用されるマゼスラマイシン化合物生産の一例としては、ストレプトミセス・チオルテウス ME 561-84 株がある。ME 561-84 株の菌学的性状は次に示すとおりである。

1. 形態

ME 561-84 株は顕微鏡下で、分枝した菌中菌糸より輪生枝をもつた気菌糸を伸長し、螺旋形成はみとめられない。成熟した胞子鎖は 10 個

発育上に、白～黄味灰〔 1 ba Yellow Tint ~ 2ba Pearl 〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は茶色味を呈する。

(4) ステアチン・硝酸塩寒天培地 (ISP-培地 4, 27℃培養)

無色～うす黄茶〔 3 ng, Yellow Maple 〕の発育上に、白～黄味灰〔 1 cb, Ivory Tint 〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は培養後 13 日目位からわずかに黄色味をおびる。

(5) チロシン寒天培地 (ISP-培地 7, 27℃培養)

うす黄茶～黄茶〔 2 pi ~ 2 ni, Mustard Brown 〕～暗い黄茶〔 3 pi, Deep Brown 〕の発育上に、白～黄味灰〔 1 ba, Yellow Tint ~ 2ba Pearl 〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味～茶色味を呈する。

(6) 栄養寒天培地 (27℃培養)

うす黄～うす黄茶〔 3 ng, Yellow Maple 〕の発育上に、白色の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

(7) イースト・麦芽寒天培地 (ISP-培地 2, 27℃

培養)

うす黄茶～黄茶〔3 ni, Clove Brown〕の発育上に、白～黄味灰〔1 ch, parchment～2 ch Ivory Tint〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は、わずかに茶色味をおびる。

(f) オートミル寒天培地 (ISP-培地3, 27℃培養)

うす黄～うす黄茶の発育上に、白～黄味灰〔2 ch Ivory Tint〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

(g) グリセリン・硝酸塩寒天培地 (27℃培養)

無色～うす黄の発育上に、白～黄味灰の気菌糸をうつすらと着生し、溶解性色素はみとめられない。

(h) スターチ寒天培地 (27℃培養)

無色～うす黄茶〔3 ng, Yellow Maple〕の発育上に、白～黄味灰〔2 ch Ivory Tint〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は培養後15日目位からわずかに黄色味をおびる。

(i) リンゴ酸石灰寒天培地 (27℃培養)

無色の発育上に、白～黄味灰〔1 ba, Yellow

Tint～2 ba, pearl〕の気菌糸を着生し、溶解性色素はみとめられない。

(j) 単純ゼラチン穿刺培養 (20℃培養)

発育はうす黄～うす黄茶、気菌糸は培養後14日目頃から着生し、黄味灰を呈する。溶解性色素は培養後14日目頃からわずかに黄色味をおびる。

(k) グルコース・ペプトン・ゼラチン穿刺培養 (27℃培養)

にぶ黄～うす黄茶の発育上に、黄味灰の気菌糸をうつすらと着生し、溶解性色素は黄色味をおびる。

(l) 脱脂牛乳 (27℃培養)

うす黄～にぶ黄の発育上に、白～黄味灰の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

(m) セルロース (27℃培養)

発育は無色、気菌糸は着生せず、溶解性色素もみとめられない。

生理的性質

(1) 生育温度範囲

スターチ・イースト寒天 (可溶性澱粉10%)、

酵母エキス0.2%, 硫酸寒天3.0%, pH7.0) を用いて、20℃、24℃、27℃、30℃、37℃、50℃の各温度で試験の結果、50℃を除いて、そのいずれの温度でも生育するが、最適温度は27℃～30℃付近と思われる。

(2) ゼラチンの液化 (1.5%単純ゼラチン、20℃培養; グルコース、ペプトン、ゼラチン、27℃培養)

単純ゼラチンの場合は、培養後5日目頃から液化がみられるが、その作用は中等度～弱い方である。グルコース・ペプトン・ゼラチン培地では、培養後3週間を経過しても液化がみとめられなかった。

(3) スターチの加水分解 (スターチ・無機塩寒天及びスターチ寒天、何れも27℃培養)

培養後10～14日目頃から水解性がみとめられ、その倍出は極めて弱い方である。

(4) 脱脂牛乳の凝固・ペプトン化 (脱脂牛乳、37℃培養) 培養後3日目に凝固が完了し、後ペプトン化が始まり、培養後10日目にペプトン化が確

ぽ完了する。凝固、ペプトン化ともにその作用は強い方である。

(5) メラニン様色素の生成 (トリプトン・イースト・ブロス、ISP-培地1; ペプトン・イースト・鉄・寒天、ISP-培地4; チロシン寒天、ISP-培地7、何れも27℃培養)

トリプトン・イースト・ブロスではメラニン様色素の生成はみとめられず、ペプトン・イースト・鉄寒天及びチロシン寒天の場合もわずかに褐色の溶解性色素を呈する程度で、おそらく陰性と思はれる。

(6) 炭素源の利用性 (ブリードハム・ゴトリブ寒天、ISP-培地7、27℃培養)

グルコースを利用して発育し、イノシトールはおそらく利用していると判定され、L-アラビノース、D-キシロース、D-フラクトース、シュクロース、L-ラムノース、ラフィノース、D-マンニトールは利用しない。

(7) リンゴ酸石灰の溶解 (リンゴ酸石灰寒天、27℃培養)

上記のごとくストレプトミセス・チオアルテウス ISP 5027株は気菌糸を寄生せず、その形態学的性状は不明であつたが、文献によれば幼生枝を有する白あるいは黄味白の気菌糸を形成するとあり、ME561-8株と同様である。

一方ME561-8株はストレプトミセス・チオアルテウスISP5027株と比較し、グルコース・ペプトン、セラチン、硝酸塩の還元反応で異なるが、その他の点では大変良く一致している。

よつて、ME561-8株をストレプトミセス・チオアルテウス (*streptomyces thioluteus*) ME561-8株と同定した。

なお、このME561-8株は工業技術院微生物工業技術研究所に昭和51年11月27日にストレプトミセスME561-8の名称で保管委託申請し、申請書受理番号は第3825号である。

放線菌は人工的に、久自然界で変異をおこしやすいが、本発明にいうストレプトミセス・チオアルテウスME561-8株はそれらの変異菌のすべ

てを包括する。本発明にいうこれらの菌種はマゼスラマイシン化合物を生産し、不腐爛およびその変異菌と明確に区別されない菌はすべてこれを包含する。

第二の本発明の方法を実施するに当つては、マゼスラマイシン生産菌株の孢子または菌糸を炭素源含有培地に接種して、好氣的に発育させることによつて、マゼスラマイシン化合物、特にマゼスラマイシンAを含む培養液が得られる。炭素源としては放線菌の炭素源として用いられる公知のものはすべて使用できる。例えばグルコース、マルトース、デkastリン、澱粉、ラクトース、サツカコース、ガラクトース、グリセリン、大豆油等を炭素源として利用できる。その1例を表1に示す。ペプトン0.75%, 肉エキス0.75%, NaCl 0.3%, CaCO_3 0.32%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.00056%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.00008%, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.00064%, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.00016%を含む培地を基礎培地として、上記の炭素源を下記の濃度に添加した培地125mlを500ml容の坂

口フラスコに分注して、120℃で20分間、加圧滅菌して冷却し、これに、放線菌ME561-8株の培養から孢子および菌糸を接種し、27℃で好氣的に振盪培養した時、培養3日目または4日目のマゼスラマイシン化合物の生産量は第4表に示す通りである。

第4表

炭素源の種類と濃度	培養日数	生産量
グリセリン 2.5%	3日	150μg/ml
グルコース 2%	3	93
ガラクトース 2%	3	3
ラクトース 2.5%	3	7
デkastリン 2%	3	13
マルトース 2%	3	9
サツカコース 4%	4	5
グルコース 1%	3	46
澱粉 1%		
大豆油 2%		
炭粉 0.5%	3	28
グルコース 0.5%		

上記の様に、いずれの炭素源もこれらの化合物の生産に利用できるが、特にグリセリン、グルコースが好適な炭素源である。

望素源としてはマゼスラマイシン化合物の生産のために、放線菌の炭素源として用いられる公知の望素源はすべて利用できる。例えばペプトン、肉エキス、酵母エキス、大豆粉、大豆粕、コーンステアーブリーカー、鰹実粉、魚粉、カザミノ酸、N-2-アミン等が利用できるが、その一例を表5に示す。上記の様にグルコース1%, 澱粉1%, NaCl 0.3%, CaCO_3 0.32%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.00056%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.00008%, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.00064%, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.00016%を含む培地を基礎培地として、下記の濃度になる様に望素源を添加して滅菌し、これに前記の液体培地に発育せしめた孢子または菌糸を接種して3日間または4日間振盪培養した時のマゼスラマイシン化合物の生産量は第5表に示す通りである。

第 3 表

培養液の種類と濃度	培養日数	生産量
肉エキス 0.75%	3	150 μ g/ml
ペプトン 0.75%		
酵母エキス 0.25%	3	28
大豆粉 2.5%		
酵母エキス 0.5%	4	31
大豆粉 2.0%		
大豆粉 1.5%	3	23
(プロリツ)		
コーンステイブリーカー 2.0%	3	36
卵黄粉 1.5%	3	18
レ-アスバラギン 0.2%		
魚 粉 2.0%	3	46
酵母エキス 0.5%	3	38
カザミノ酸 0.5%		
酵母エキス 0.2%	3	5
N-2-アミン 1.0%		
大豆粉(プロリツ) 2.5%	4	73
ペプトン 0.2%		

上記の様に、いずれの培養液も利用できるが、特に、肉エキス、ペプトンが好適な培養液である。マゼスラマイシン化合物を生産せしめるために必要とするならば無機塩、金属塩、重金属塩の量を加える。又培養中に消泡を必要とする時はシリコン樹脂、大豆油、アブカノール等の消泡剤を使用できる。

マゼスラマイシン化合物の大量生産には液体培養が好ましく、培養温度は生産菌が生育し、マゼスラマイシン化合物を生産する範囲で適用し得るが、菌に好ましいのは25℃～30℃である。培養は普通マゼスラマイシン化合物が充分蓄積されるまで継続される。例えばグリセリン1.5%、結実粉1.5%、NaCl 0.5%、レ-アスバラギン0.2%の培地をPH 5.4に調整し、これに放線菌ME 361-6株の斜面培養から胞子および菌糸を接種し、27℃で好氣的に攪拌培養を行ったところ、培養2～4日目に目的の抗生物質の最高の蓄積が見られる。

マゼスラマイシン化合物の定量は試験管として

パテル・サブナリス PCI 19などを使用して、抗生物質の定量に用いられる通常の円筒平板法によつて行ない、本発明で得られた純粋なマゼスラマイシンBを標準物質に用いる。培養液中に他の抗生物質例えばチオアルテン、オーレオスリシンなどが同時に生産される時は、その培養液を酢酸エチルなどの溶媒に抽出し、残りの水層を上記の円筒平板法によつて測定することにより、マゼスラマイシン化合物を定量することができる。この場合、マゼスラマイシン化合物も酢酸エチルなどの溶媒に一部移行するので、マゼスラマイシンを対照として同じように操作し、標準曲線を作製し、これにより定量することができる。

マゼスラマイシン化合物の生産菌の培養液からこの抗生物質を抽出するには、ブタノールなどの水不混和性有機溶媒を使用する溶剤抽出法および活性炭などを吸着剤として使用する吸着法によつて行なわれる。マゼスラマイシンBのブタノール-水における分配係数は、PH 6～8の範囲で10以上を示す。従つて、このPH範囲で培養物

中よりマゼスラマイシン化合物を抽出することができる。また、培養液中のマゼスラマイシン化合物を抽出するに当り、吸着剤として、活性炭および非イオン交換性多孔質樹脂などを用いることは、有効である。特にジビニルベンゼンで架橋したポリスチレン樹脂、アンバーライト XAD-2 米国ローランド・ハース社製を用いるカラムクロマトグラフィーを行うことは好ましく、XAD-2に吸着した抗生物質はメタノール水、アセトン水などで溶出され、減圧蒸留によつて濃縮される。菌体等固形分中のマゼスラマイシン化合物は通常もちいられる有機溶剤例えばメタノール、エタノール、アセトン、ブタノール等に抽出され、減圧蒸留によつて濃縮される。菌体を含む培養液から菌体を除くことなくマゼスラマイシン化合物がよく溶ける溶剤、例えばブタノールに菌体部分および菌体部分のマゼスラマイシン化合物を抽出することもできる。上記の様にして得た抽出乾固物はエチルエーテル、ノルマルヘキサン等で処理すると、マゼスラマイシン化合物は不溶部に移行

する。さらにこの不溶部をメタノールで抽出すると將應にマゼスラマイシン化合物は抽出され、残存は不純物として除かれる。マゼスラマイシンはこれらの抽出法を適宜に組合せあるいは繰返すことによつて精製することができるが、更にセフアデツクスLH-20(フアルマシア社製)、セルロースおよびシリカゲルなどを用いる通常のカラムクロマトグラフィーによつて精製される。培養物中にしばしば共存する既知抗生物質チオオルテンおよびオーレオスリシンは上述のエチルエーテル、ノルマルヘキサン等による処理またはシリカゲルのカラムクロマトグラフィーによつて容易にマゼスラマイシン化合物と分離することができる。

上記した抽出精製処理は必要に応じて単独或いは任意に組み合わせることにより、マゼスラマイシン化合物を精製することができる。マゼスラマイシンA, B, Cを非極性溶媒中で加熱濃縮して脱水することにより、アンヒドロマゼスラマイシンが得られる。ここで用いられる非極性溶媒としては、例えば、アセトン、アセトニトリル、酢酸

エチル、クロロホルム等である。アンヒドロマゼスラマイシンを水または含水の非アルコール性溶媒に溶解すると、水が添加されてマゼスラマイシンAが得られる。マゼスラマイシンAまたはアンヒドロマゼスラマイシンをメタノールに溶解するとメタノールが反応して比較的安定なマゼスラマイシンBに変換することができる。同様に、マゼスラマイシンAまたはアンヒドロマゼスラマイシンをエタノールに溶解すると、エタノールが反応して比較的安定なマゼスラマイシンCが得られる。

従つて、第三の本発明の要旨とするところは、マゼスラマイシンAまたはアンヒドロマゼスラマイシンをメタノールまたはエタノールと反応させることからなる、マゼスラマイシンBまたはCの製造法にある。

マゼスラマイシン生産菌の培養液からマゼスラマイシンを採取するために、上記抽出精製法を有効に組合せた一例をあげると次の通りである。培養液をD.H.F.に調製し、ブタノールで、抗生物質を抽出し、水を加えて減圧下に40℃以下で

濃縮しブタノールを完全に除去し水溶液とする。これをpH7.5に調整しアンパーライトXAD-2の塔に吸着させ、充分水洗後50%アセトン水で萃出される。これを減圧下に40℃以下で濃縮乾固して粗粉末を得る。これを少量のメタノールに溶かし、メタノールに不溶の夾雑物は遠心分離または伊通により除きシリカゲルを加え、均一に混合した後乾燥したもの、シリカゲルを展開溶剤で層別してつめたカラムの頂部に置き、次にクロロホルム-メタノール(100:5容)で展開する。活性部を濃縮後メタノールに溶解し、冷蔵庫に放置すると、黄色針状品としてマゼスラマイシンBを得ることができる。

夾雑物が多く結晶が析出しにくい時はシリカゲルの再クロマトグラフィーを展開溶剤に酢酸エチルを用いて行い、活性部を濃縮後メタノールに溶解し、冷蔵庫に放置するとマゼスラマイシンBの結晶を得ることができる。

以下に、マゼスラマイシン化合物の製造法に関する実施例を示すが、本発明により、マゼスラ

マイシンA, B, Cおよびアンヒドロマゼスラマイシンの性状が明らかにされたのでこの性状に基づいてマゼスラマイシン化合物の製造法を種々考案することができる。

従つて、本発明は実施例に限定されるものではなく実施例の修飾手段は勿論、本発明によつて明らかにされたマゼスラマイシン化合物の性状に基づいて公知の手段を施してマゼスラマイシンA, B, Cおよびアンヒドロマゼスラマイシンを生産、濃縮、抽出、精製する方法をすべて包括する。

実施例1

寒天斜面培地に培養した放線菌ME561-84株(農工研菌寄第3825号)をグリセリン1.5g、結実粉1.5g、L-アスパラギン0.2g、食塩0.3gを含む液体培地に接種し、27℃で48時間振盪培養して1次種培養を得た。次に上記組成の液体培地5gを5.0ml容量の坂口フラスコに1.25mlずつ分注したものに1次種培養液1mlずつを接種し、27℃で4日間振盪培養した。pH7.6の培養液4.74mlを得た。母液は4.6mg/ml

(全量 216 mg) の量でマゼスラマイシン化合物を含んでいた。伊通で分けられた固体は 215 mg で 60 mg のマゼスラマイシン化合物を含んでいた。上記培養液 4740 ml の PH を水酸化ナトリウムで 8.0 に調整し、5.000 ml のブタノールを加えて攪拌抽出し、減圧濃縮し、精製水 1600 ml に溶解した。マゼスラマイシン化合物の 87% にあたる 191 mg がブタノール抽出により得られ、その水溶液の PH は 4.5 であった。水酸化ナトリウムで PH を 7 に調整し、アンバーライト XAD-2 (400 ml, 3.2 x 5.0 吋) のカラムを通過させた。カラムを精製水 3000 ml を通過させることにより洗脱し、50% アセトン水 2,000 ml により、マゼスラマイシン化合物を溶出せしめ、減圧下で濃縮乾固し、148 の褐色粉末を得た。184 mg のマゼスラマイシン化合物 (マゼスラマイシン A が主体) を含有したこの褐色粉末を少量のメタノールに溶解し、シリカゲル (ワコゲル C-200) 4 g を加え均一に混合した後、減圧下で乾燥する。これをクロロホルムでシリカゲル

50 g を展開してつめたカラム (内径 20 mm) の頂部に置く。次にクロロホルム-メタノール (50:1 容) 250 ml を通過させ、次にクロロホルム-メタノール (20:1 容) で展開し、139 g ずつ分画採取する。分画 32~45 にマゼスラマイシン B が溶出された。この分画を減圧濃縮して、マゼスラマイシン B 71 mg を含有する黄白色粉末 118 mg を得た。収率は 33% であった。

実施例 2

実施例 1 で得られた黄白色粉末 118 mg を 60 ml で 50 ml のメタノールに溶解した後、冷却し、マゼスラマイシン B の針状結晶 46 mg を得た。結晶化の収率は 63% であった。

実施例 3

実施例 1 と同様の方法で得た乾燥粉末 115 mg をメタノール 1 ml に溶解し、シリカゲル 1 g を加え均一に混合した後、減圧下で乾燥する。これを酢酸エチルでシリカゲル 1 g を展開してつめたカラム (内径 4 mm) の頂部に置く。次に酢酸エチル 600 ml で展開し、79 g ずつ分画採取する。

分画 23~39 にマゼスラマイシン B が溶出された。この分画を減圧濃縮して、61 mg のマゼスラマイシン B の純粋な乾燥粉末を得た。これを、加温しながら 6 ml のメタノールに溶解した後、冷却し、マゼスラマイシン B の結晶 40 mg を得た。

実施例 4

寒天斜面培地に培養した放線菌 ME-561-84 株 (農工研菌保第 3825 株) をグリセリン 2.5 g、牛肉エキス 0.5 g、ポリブタン 0.5 g、酵母エキス 1.0 g、食塩 0.2 g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05 g、 K_2HPO_4 0.05 g、沈降性炭酸カルシウム 0.32 g を含む液体培地 5 l を、500 ml 容のワッフル付三角フラスコに 110 ml ずつ分注したものを用いて、27℃、4 日間回転培養した。PH 5.6 の培養液 3530 ml および菌体 1160 g を得た。液体はメタノール 2500 ml を加えて攪拌抽出し、抽出液を減圧濃縮し、水 500 ml に溶解し、培養液と合わせた。以下、実施例 1 と同様の方法でブタノール抽出、アンバーライト XAD-2 処理を行ない、22 g の粗粉末を得た。この粗粉末を

実施例 1 の 2 倍のスケールでシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない、マゼスラマイシン B を含む分画を集めて、減圧濃縮し、150 mg のマゼスラマイシン B の純粋な粉末を得た。これをジメチルホルムアミド 2 ml を加えて溶解し、メタノール 35 ml を加えて、冷却し、マゼスラマイシン B の針状結晶 68 mg を得た。

実施例 5

マゼスラマイシン B の結晶 124 mg をアセトニトリル 100 ml に溶解し、極微量のアンバーライト CG-50 を添加して、1 時間攪拌した。アンバーライト CG-50 をグラスフィルターで伊通して除去し、アセトニトリルを減圧濃縮により除去していくと、針状結晶が析出した。これをアセトニトリルより再結晶し、80 mg のアンヒドロマゼスラマイシンの結晶性粉末を得た。

なお、マゼスラマイシン C の結晶 60 mg をアセトニトリル 50 ml に溶解して上記と同様に処理すると、38 mg のアンヒドロマゼスラマイシンの結晶性粉末を得た。

実例例 5 で得られたアンヒドロマゼスラマイシンの 5.0 町を 5.0 町アセトン水 5.0 ml で溶解し、減圧下濃縮すると、マゼスラマイシン A を得た。

実例例 7

実例例 6 で得られたマゼスラマイシン A の 5.0 町を 1.5 ml のメタノールに溶解し、減圧下濃縮してマゼスラマイシン B の結晶 4.5 町を得た。

実例例 8

マゼスラマイシン A の 5.0 町を 1.5 ml のエタノールに溶解し、減圧下濃縮してマゼスラマイシン C の結晶 4.5 町を得た。

実例例 9

実例例 5 で得られたアンヒドロマゼスラマイシンの 5.0 町を 1.5 ml のメタノールに溶解し、減圧下濃縮して、マゼスラマイシン B の結晶 3.2 町を得た。

実例例 10

実例例 5 で得られたアンヒドロマゼスラマイシンの 2.1 町をエタノール 3.0 ml に溶解し、減圧下

特開 53-82792(13)
濃縮して、マゼスラマイシン C の結晶性粉末 2.4 町を得た。

4 図面の簡単な説明

第 1 図はマゼスラマイシン A の 4.1 町 4.5 ml のアセトニトリル溶液中での紫外部吸収スペクトル曲線を示す。第 2 図はマゼスラマイシン A の臭化カリウムで測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第 3 図はマゼスラマイシン B の 5.0 町 5.0 ml の 1 町メタノール溶液および 0.1 N 水酸化ナトリウム含有 1 町メタノール溶液中での紫外部吸収スペクトル曲線を示す。第 4 図はマゼスラマイシン B の臭化カリウムで測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第 5 図は、マゼスラマイシン B の重シメタルスルフォキシド溶液中で測定した核磁気共鳴スペクトル曲線を示す。

第 6 図はマゼスラマイシン C の 5.0 町 5.0 ml のアセトニトリル溶液中での紫外部吸収スペクトル曲線を示す。

第 7 図はマゼスラマイシン C の臭化カリウムで測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第 8 図

はアンヒドロマゼスラマイシンの 5.0 町 5.0 ml のアセトニトリル溶液中での紫外部吸収スペクトル曲線を示す。第 9 図はアンヒドロマゼスラマイシンの臭化カリウムで測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。

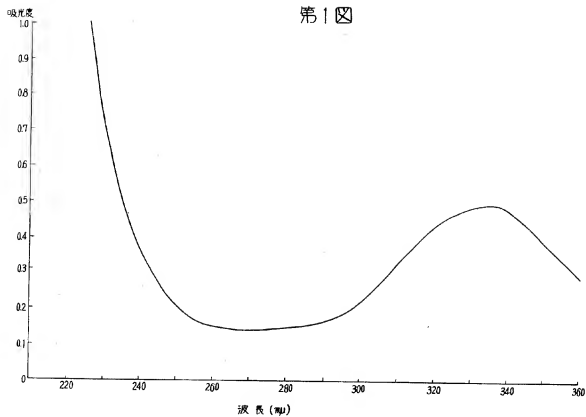
代理人 朝 内 忠 夫

代理人 八 木 田 茂

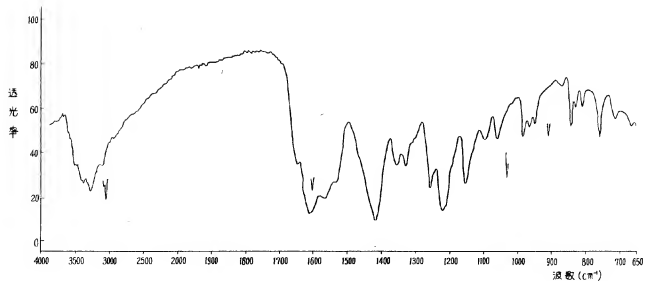
代理人 浜 野 孝 雄

代理人 森 田 新 二

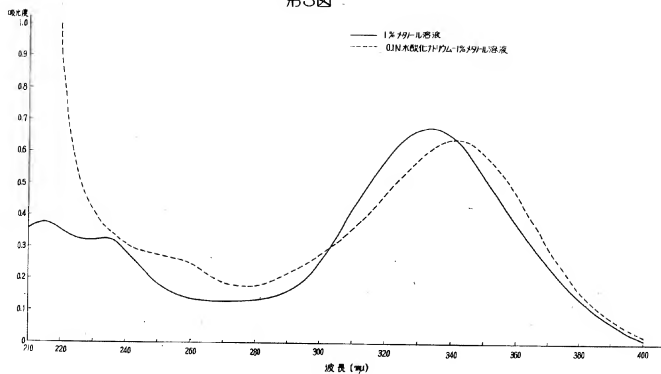
第1図



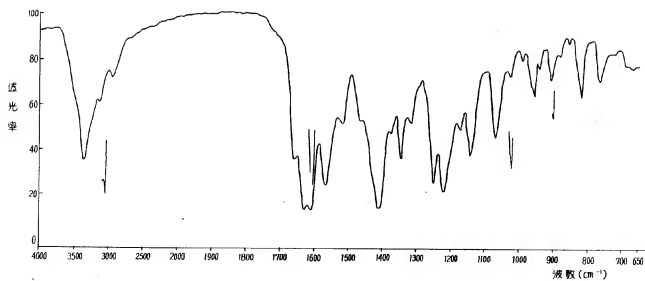
第2図



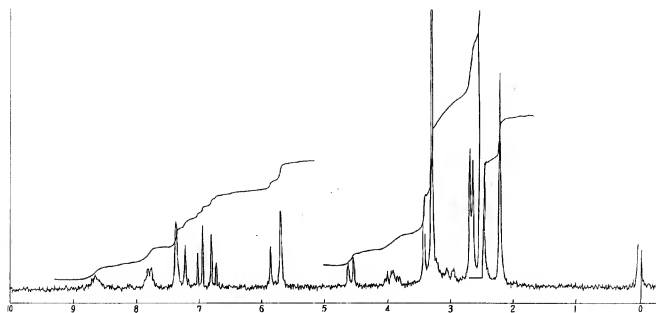
第3図



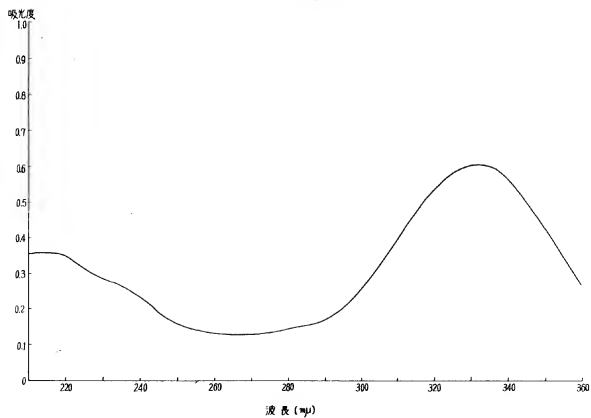
第4図



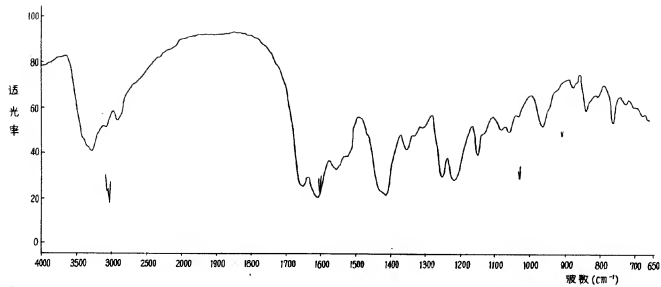
第5図



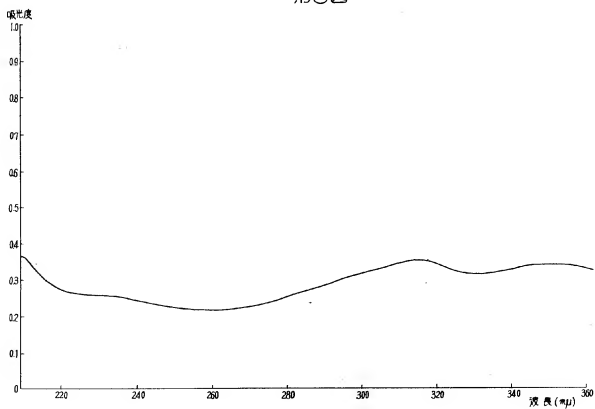
第6図



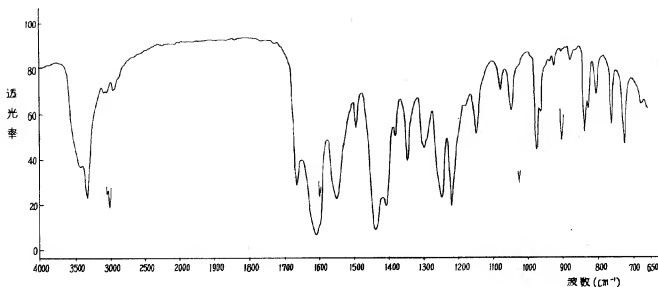
第7図



第8図



第9図



手続補正書(自発)

昭和52年3月28日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和51年特許願第157479号

2. 発明の名称

新制糖抗生物質マセスライシン及び
その製造方法

3. 補正をする者

事件との関係

特許出願人

住 所 東京都品川区上大崎3丁目14番23号

名 称 財団法人微生物化学研究会

4. 代 理 人

住 所 東京都港区新橋1丁目1番15号、物産ビル別館

(6145) 氏 名

朝 内 忠 夫

5. 補正の対称

明細書の特許請求の範囲の補および発明の詳
細な説明の欄

6. 補正の内容

- (1) 明細書の特許請求の範囲を別紙の通り補正する。
- (2) 明細書の第7頁下から7行の「アンヒドロア
ンス」を「アンヒドロマゼス」と補正する。
- (3) 同第7頁5行の「34600」を「34,600」と
補正する。
- (4) 同第7頁6行の「39,400」を「39,400」
と補正する。
- (5) 同第10頁5行の「12.40%」の次に及び第
10頁7~8行の「メタノール」の次に「。」を
挿入する。
- (6) 同第10頁7行の「122%」を「12.2%」、
「184%」を「18.4%」と補正する。
- (7) 同第11頁3行の「属」の次に「c」を挿入
する。
- (8) 同第11頁下から7行の「ジメチルスルホキ

- シサイ」を「シメチルスルホキサイ」と補正する。
- (9) 同第12頁4行の「0.067」の次に「，」を挿入する。
- (10) 同第12頁8行の「25.700」を「25.700」と補正する。
- (11) 同第12頁9行の「19.300」を「19.300」と補正する。
- (12) 同第12頁下から3行の「觀察」の前に「が」を挿入する。
- (13) 同第12頁10行の「550」を「5.50」と補正する。
- (14) 同第12頁下から8行の「311.115」を「311.115」と補正する。
- (15) 同第12頁下から8行の「815」を「8.15」と補正する。
- (16) 同第15頁8行の「アルカノール」を「アルコール」と補正する。
- (17) 同第15頁下から3行の「各々の」の次に「供試薬に対する」を挿入する。
- (18) 同第16頁の第1表を次の通り補正する。

表1 停止濃度 (mg/ml)

スルホロジカス・アリレウス 20422	3.12
スルホロジカス・アリレウス・スルホ	1.56
シクロロジカス・アラバキ 20416	3.12
シクロロジカス・リゾイカシカス IPO3333	3.12
サルナ・ルサ POI1001	3.12
パルナ・アンダリス	4.25
パルナ・ズブナリス NREL B-558	3.12
パルナ・ズブナリス POI1119	1.56
パルナ・セレス A10010703	4.25
ヨリネバチリカ・セルス 1810	3.12
エシエリビ・ヨリ NEHJ	4.25
エシエリビ・ヨリ E-12	50
シガラ・セレンナリス 2811910	3.12
シガラ・フレナナリス 402811811	50
シガラ・ソナナリス 2811796	100
サルネナ・サフ I-43	50
サルネナ・エシエリビ・サリス 1891	4.25
プロサリス・アルナリス OX19	25
プロサリス・レトリ 08446	50
シム・ドナリス・エス・ナ・ナ A3	>50
クレブナ・ニエ・ニエ POI603	3.12
カンシガ・シム・ドナリス NI7694	4.25
カンシガ・アルナリス 3187	>25
カンシガ・ナリス NI-7692	>20
サカロ・セス・セレス NI-7694	>25
クリントロカス・ナリス NI-7694	>12.5
ヘル・ソリス・ナリス NI-7694	>12.5
ビリタリ・ナリス	>25
ナント・ナリス・ナリス	>25
ナント・ナリス・ナリス	1.56
ナント・ナリス・ナリス	>50
トリ・ナリス・ナリス 439	12.5

09 同第 17 頁下から第 8 行の式を次の通り補正する。

$$\left[\begin{array}{l} \text{批命率(％)} = \frac{(\text{処理マスの生存日数})}{(\text{未処理マスの生存日数})} \end{array} \right]$$

09 同第 19 頁下から 8 行の「 / 5 Me 」を「 / 5 me 」と補正する。

09 同第 19 頁下から 7 行の「 parchment 」を「 Parchment 」と補正する。

09 同第 19 頁下から 8 行の「 ISP 」を「 ISP 」と補正する。

09 同第 19 頁下から 2 行の「 Yellow Maple 」を「 Yellow Maple 」と補正する。

09 同第 19 頁末行の「 ~pi 」を「 ~ p1 」と補正する。

09 同第 20 頁 1 行の「 / ba 」および「 2 ba 」をそれぞれ「 / ba 」および「 2 ba 」と補正する。

09 同第 20 頁下から 10 行の「 p i 」および「 n i 」をそれぞれ「 pi 」および「 ni 」と補正する。

09 同第 20 頁下から 9 行の「 J pi 」を「 J pi 」と補正する。

09 同第 20 頁下から 8 行の「 YellowTint ~ 2ba 」を「 Yellow Tint ~ 2 ba 」と補正する。

09 同第 20 頁下から 8 行の「 Yellow 」を「 Yellow 」と補正する。

09 同第 21 頁 3 行の「 parchment 」を「 Parchment 」と補正する。

09 同第 21 頁 8 行の「 2 cb 」を「 2 cb 」と補正する。

09 同第 21 頁下から 4 行の「 J ng, Yellow 」を「 J ng, Yellow 」と補正する。

09 同第 21 頁下から 8 行の「 2 cb 」を「 2 cb 」と補正する。

09 同第 22 頁 1 行の「 pear1 」を「 Pearl 」と補正する。

09 同第 22 頁下から 7 行の「 (4) 」を「 (3) 」と補正する。

09 同第 22 頁下から 8 行の「 れがその信用は 」を「 れるが、その作用は 」と補正する。

09 同第 24 頁 8 行の「 ISP 」を「 ISP 」と補正する。

09 同第 25 頁 10 行の「 思は 」を「 思わ 」と補正する。

09 同第 25 頁下から 8 行の「 Iop 」を「 IOP 」と補正する。

09 同第 25 頁 5 行の「 要求 」を「 要約 」と補正し、また「 s41 ~ 44 」を「 s41 ~ 44 」とそれぞれ補正する。

09 同第 25 頁 11 行の「 分解 」を「 分解力 」と補正する。

09 同第 25 頁下から 3 行の「 Systemetic 」を「 Systematic 」と補正する。

09 同第 25 頁 12 行の「 The Japanese 」を「 The Japanese 」と補正する。

09 同第 27 頁の第 3 表を次表の通り補正する。

我 了 呢

[illegible]

註(1)：±はおそらく、±はおそらく－を意味する。

在(2): 文献記述は(4) B. A. Waksman 第② The Actinomycetes, 2 巻, 279 頁.

64 同第28頁3行の「ス・ペプトン」を「ス、ペプトン」と補正する。

※ 同第 28 頁 / / 行の「streptomyces」を「Streptomyces」と修正する。

H9 同第 29 頁 2 行の「不菌種」を「本菌種」と
補正する。

960 同誌 29 頁下から 7 行の「表ノ」を「表々」
と修正する。

補 同第 29 頁下から 6 行の「NaCl」を「NaCl」
と修正する。

例 同第 29 頁下から 5 行の「Caco, 0.32 %」を
「Caco 0.32 %」と修正する

四) 同第30頁第4表中の下から5行の「グルコ

例 同第 3 / 頁下から 2 行の「 $\text{CaCO}_3 0.32\%$ 」を
「 $\text{CaCO}_3 0.32\%$ 」と修正する。

※ 同第 33 頁下から 6 行の「PH」を「pH」と
修正する。

例 同第 3 4 頁下から 2 行および末行の「PR」を「PR」から「PR」に変更する。

例 同票の裏面裏の「米国ロームアンド・ハース社製」を「(米国ローム・アンド・ハース社製)」と補正する。

例 同第 36 頁 10 行の「オーレオスリシン」を「オーレオスライシン」と修正する。

④ 同第 36 頁下から 3 行の「脱水」の次に「又は脱アセトール」を挿入する。

68 同部 37 頁下から 2 行及び第 38 頁 2 行の
「PH」を「PM」と修正する。

例 同第 28 頁 4 行の「される」を「させる」と
修正する

例 同第 37 頁下から 2 行の「PH」を「pH」と補正する

例 同第 40 頁 4 行, 9 行及び 10 行の「PR」を「PR」上をそれぞれ修正する。

例 同部 40 頁 6 行の「1600 冊」を「1,600 冊」

例 同第4ノ頁7行および10行の「黄土色 粉」を「赤土色 粉」と訂正する。

© 2006 The Authors
Journal compilation © 2006 Blackwell Publishing Ltd

る。

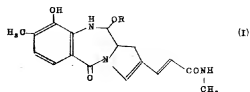
例 同第 2 頁下から 7 行の「PH」を「pH」と修正する。

例 同第 2 頁下から 6 行および 3 行の「3530」、「1160」、「2500」をそれぞれ「3,530」、「1,160」、「2,500」と修正する。

例 同第 5 頁下から 7 行の「スルホオキサイド」を「スルホキサイド」と修正する。

2 特許請求の範囲

1 次の一般式(I)



〔式中 R は水素原子または低級アルキル基、特にメチル基またはエチル基を示す〕で表わされる化合物またはこれのアニドロ体である制菌抗生物質マゼスラマイシン化合物。

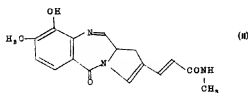
2 一般式(I)の化合物において R が水素原子で表わされるマゼスラマイシン A である特許請求の範囲第 1 項記載の化合物。

3 一般式(I)の化合物において R がメチル基で表わされるマゼスラマイシン B である特許請求の範囲第 1 項記載の化合物。

4 一般式(I)の化合物において R がエチル基で表わされるマゼスラマイシン C である特許請求の範囲第 1 項記載の化合物。

範囲第 1 項記載の化合物。

5 一般式(I)の化合物のアニドロ体であつて次式(II)



で表わされるアニドロマゼスラマイシンである特許請求の範囲第 1 項記載の化合物。

6 ストレプトミセス菌に属するマゼスラマイシン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地中で好氣的に培養して、その培養物中にマゼスラマイシン化合物を生産せしめ、培養物からマゼスラマイシン化合物を採取することを特徴とする、抗生物質マゼスラマイシン化合物の製造法。

7 ストレプトミセス・ナオルタウス M 541-16 株(微生物研寄第 J 553 号)を栄養源培地中で 25〜35°C の温度範囲で好氣的に培養し

て、その培養物中にマゼスラマイシン化合物を生産せしめる特許請求の範囲第 4 項記載の方法。

8 マゼスラマイシン化合物生産菌の培養物から水非混和性の有機溶剤で抽出によつてマゼスラマイシン化合物を採取する特許請求の範囲第 4 項記載の方法。

9 マゼスラマイシン化合物生産菌の培養液から吸着剤、特に活性炭または多孔質樹脂に吸着せしめてマゼスラマイシン化合物を採取する特許請求の範囲第 4 項記載の方法。

10 マゼスラマイシン化合物を含有する粉末を採取し、この粉末をメタノール又はメタノールを含有する混合溶媒で抽出してマゼスラマイシン B を採取する特許請求の範囲第 4 項記載の方法。

11 マゼスラマイシン B を採取し、非極性溶媒中で脱メタノールして、アニドロマゼスラマイシンを採取する特許請求の範囲第 4 項又は第 7 項記載の方法。

12 アニドロマゼスラマイシンを採取し、含水溶媒に溶解して、マゼスラマイシン A を採取す

る特許請求の範囲第4項記載の方法。

13 アンヒドロマゼスラマイシンを採取し、エタノールを含有する溶液に溶解して、マゼスラマイシンを採取する特許請求の範囲第4項記載の方法。

14 マゼスラマイシンAまたはアンヒドロマゼスラマイシンをメタノールまたはエタノールと反応させることから成るマゼスラマイシンBまたはCの製造法。

手続補正書(自発)

昭和52年5月21日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和51年特許願第157479号

2. 発明の名称

新制癌抗生物質マゼスラマイシン及びその製造方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人
住所 東京都品川区上大崎5丁目1番23号

名称 財団法人微生物化学研究会

4. 代理人

住所 東京都港区西新橋1丁目1番15号、物産ビル別館

(6145) 氏名 朝 内 忠 夫

※補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

※補正の内容

- (1) 明細書第1頁9行の「*3,400」を「*3,400」と補正する。
- (2) 同第1頁下から8行の「311.126」を「311.126」と補正する。
- (3) 昭和52年3月28日差出の手続補正審第*頁下から10行の「エンテリタイチリス」を「エンテリテイリス」と補正する。
- (4) 同手続補正審第*頁下から9行の「NI-7492」を「NI7492」と補正する。
- (5) 同手続補正審第*頁下から7行の「NI-7496」を「NI7496」と補正する。
- (6) 同手続補正審第*頁の第3表中6~7行の「種々の培地上で気菌糸の形成なく不明」を削除し同表3~6行にわたって第3欄中に次の記載を挿入する。

「種々の培地上で
気菌糸の
形成なく
不明」

- (7) 同手続補正審第*頁第2表中の第*欄4行の「~黄茶色(1)」を「~黄茶(1)」と補正する。
- (8) 同手続補正審第*頁1~2行の記載を削除し代りに「(例) 同第28頁8行の「ス、ペプトン」を「ス・ペプトン」と補正する。」を挿入する。
- (9) 同手続補正審第*頁7行の「表*」を削除し「第*表」を挿入する。

手続補正書 (自発)

昭和 52 年 7 月 28 日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和 51 年 特 許 願 第 157479 号

2. 発明の名称

新創微生物物質マゼスライシン及びその製造方法

3. 補正をする者

事件との関係

特許出願人

住 所 東京都品川区上大崎 3丁目14番23号

名 称 財団法人微生物化学研究会

4. 代 理 人

住 所

東京都品川区品川1丁目15番15号 飲食ビル別館
東京特許法律事務所 1 号 日本橋区本町一丁目1番1号 三井物産ビル

(6145) 氏 名

忠 夫

5. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

6. 補正の内容

- (1) 明細書第 12 頁 2 行の「2.05」を「2.66」と補正する。

特開 昭53-82792(24)